

杏叶防风的化学成分及抗炎活性研究(II)

汪洋^{1†}, 薛靖怡^{3,4†}, 雷艳^{3,5},
潘洁¹, 杨畅¹, 李勇军^{1,2,3}, 马雪^{1*}¹贵州医科大学民族药与中药开发应用教育部工程研究中心 贵州省药物制剂重点实验室;²国家苗药工程技术研究中心; ³贵州医科大学药学院, 贵阳 550004;⁴贵州省毕节市七星关区妇幼保健院; ⁵毕节市第二人民医院, 毕节 551700

摘要:为了研究杏叶防风(*Pimpinella candolleana*)的化学成分及其抗炎活性,采用正相硅胶、ODS反相硅胶、D101大孔吸附树脂及MCI树脂等多种色谱方法对杏叶防风70%乙醇提取物部位进行了分离,并通过与文献对比波谱数据鉴定化合物结构。体外培养小鼠单核巨噬细胞白血病细胞(RAW 264.7)细胞,脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导RAW 264.7细胞建立氧化损伤模型,利用一氧化氮(NO)试剂盒检测NO浓度,评价各化合物的抗炎活性。从该植物中分离得到25个黄酮类化合物,分别鉴定为1-hydroxy-2,3,4,7-tetramethoxyxanthone(1)、1-hydroxy-2,3,4,6-tetramethoxyxanthone(2)、bellidifolin(3)、desmethylbellidifolin(4)、当药醇苷(5)、日本当药黄素(6)、异日本当药素(7)、木犀草素-7-O-β-D-芸香糖苷(8)、luteolin-7-O-β-D-glucopyranosyl-(1→6)-[6'''-O-caffeoyl]-β-D-glucopyranoside(9)、木犀草素-4'-O-β-D-葡萄糖苷(10)、木犀草素-6-C-β-L-岩藻糖苷(11)、荭草素(12)、异荭草素(13)、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷(14)、芹素(15)、quercetin-3-O-β-D-(6''-caffeoyl)galactoside(16)、小麦黄素-7-O-β-D-葡萄糖苷(17)、葛根素(18)、牡荆素(19)、高陆素-3-O-β-D-葡萄糖苷(20)、高陆素-3-O-β-D-半乳糖苷(21)、鼠李素-3-O-β-D-半乳糖苷(22)、鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷(23)、异鼠李素-3-O-β-D-葡萄糖苷(24)、柯伊利素-7-O-β-D-葡萄糖苷(25)。其中,化合物13~15首次从杏叶防风中分离得到,化合物1~12、16~25首次从苗药属植物中分离得到;生物活性测定结果表明,化合物1~3、6~10、12~15、17~20、23、25能抑制LPS诱导的RAW 264.7细胞的NO释放,显示出一定的抗炎活性。

关键词:杏叶防风;化学成分;结构鉴定;抗炎

中图分类号:R284.1

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)8-1357-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.8.009

Chemical constituents and anti-inflammatory activity
of *Pimpinella candolleana* (II)WANG Yang^{1†}, XUE Jing-yi^{3,4†}, LEI Yan^{3,5},
PAN Jie¹, YANG Chang¹, LI Yong-jun^{1,2,3}, MA Xue^{1*}¹Guizhou Medical University Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education) / Guizhou Medical University Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics;²National Engineering Research Center of Miao's Medicines;³Guizhou Medical University College of Pharmacy, Guiyang 550004, China;⁴Bijie City Qixingguan District Maternal and Child Health Hospital;⁵The 2nd People's Hospital of Bijie, Bijie 551700, China

Abstract: This study aims to explore the chemical constituents and anti-inflammatory activities of extracts from *Pimpinella candolleana*. The 70% ethanol extract from *P. candolleana* were isolated by different chromatographic procedures including

收稿日期:2024-01-25

接受日期:2024-06-12

基金项目:国家自然科学基金(U1812403);贵州省高层次人才创新创业计划(20165677);贵州省科技计划(黔科合中引地[2023]006)

† 共同第一作者

* 通信作者 E-mail: xuema0111@163.com

silica gel, ODS gel, D101 macroporous resin and MCI resin column. The structures of the compounds were identified by comparing the spectral data with the literature. Their potential anti-inflammatory effects were evaluated on murine macrophage cell line (RAW 264.7) stimulated by lipopolysaccharide (LPS). Twenty-five compounds were isolated and identified as 1-hydroxy-2,3,4,7-tetramethoxyxanthone (**1**), 1-hydroxy-2,3,4,6-tetramethoxyxanthone (**2**), bellidifolin (**3**), desmethylbellidifolin (**4**), swertianolin (**5**), swertiajaponin (**6**), isoswertiajaponin (**7**), luteolin-7-*O*- β -D-rutinoside (**8**), luteolin-7-*O*- β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 6)-[6'''-*O*-caffeoyl]- β -D-glucopyranoside (**9**), luteolin-4'-*O*- β -D-glucopyranoside (**10**), luteolin-6-*C*- β -L-fucoside (**11**), orientin (**12**), isoorientin (**13**), quercetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**14**), apigenin (**15**), quercetin-3-*O*- β -D-(6''-caffeoyl)galactoside (**16**), tricetin-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**17**), puerarin (**18**), vitexin (**19**), ombuin-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**20**), ombuin-3-*O*- β -D-galactopyranoside (**21**), rhamnetin-3-*O*- β -D-galactopyranoside (**22**), rhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**23**), isorhamnetin-3-*O*- β -D-glucopyranoside (**24**), chrysoeriol-7-*O*- β -D-glucopyranoside (**25**). Compounds **13-15** were firstly isolated from this plant. Furthermore, compounds **1-12, 16-25** were isolated from the genus *Pimpinella* for the first time. The results of bioassay showed that compounds **1-3, 6-10, 12-15, 17-20, 23, 25** exhibited different degrees of inhibitory effect against NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells and displayed potential anti-inflammatory activity.

Key words: *Pimpinella candolleana*; chemical constituents; structural identification; anti-inflammatory

杏叶防风是伞形科中茴芹属的植物杏叶防风 (*Pimpinella candolleana* Wight et Arn.) 的新鲜或干燥全草, 也被称为骚羊古、杏叶茴芹等, 它主要生长在西南及广西等地区, 并被贵州省少数民族用作药材。其味辛、微苦、性温, 归肺、脾、胃、肝经, 具有行气止痛、解毒消肿的功效^[1], 在临床上常用于治疗黄疸型肝炎、急性胆囊炎、跌打损伤和无名肿毒等^[2]。但其确切的药用成分尚不明确。现代研究表明, 该属植物含有多种化学成分, 如黄酮类、香豆素类、苯丙素类、木脂素类、萜类、挥发油等^[3], 具有抗氧化、抗菌、解痉和抗惊厥、降压、扩冠和降血脂等作用^[4-9]。但迄今为止, 国内外对杏叶防风的化学成分及药理活性研究较少, 仅 Liang 等^[2]、Chang 等^[3]从中分离了 12 个化合物, 如 Chang 等^[3]对杏叶防风中部分 3 个不同提取部位, 分别为甲醇、乙酸乙酯和石油醚, 进行 α -葡萄糖苷酶抑制活性、抗氧化活性及抑菌活性筛选。课题组前期已从该植物中等极性部位分离 20 个化合物^[10], 但仍未发现活性较好的化合物。为了更深入地了解杏叶防风在民间治疗作用的药效物质基础并挖掘活性更好的化合物, 本研究进一步对其大极性部位进行分离, 并以脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导小鼠 RAW 264.7 巨噬细胞为炎症模型, 通过测定化合物释放一氧化氮 (NO) 的抑制能力为指标, 筛选杏叶防风的抗炎生物活性化合物, 希望进一步发现杏叶防风中发挥抗炎活性物质并阐明其抗炎药效物质基础, 为更合理地开发利用该药材提供实验理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

杏叶防风于 2021 年 4 月收集自贵州省贵阳市

花溪区高坡乡, 经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为杏叶防风 *Pimpinella candolleana* Wight et Arn 的干燥全草, 标本保存于贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室 (标本号 20190901)。

小鼠单核巨噬细胞白血病细胞 (RAW 264.7, American Type Culture Collection 公司)。

1.2 仪器

Bruker AV-600 型超导核磁共振仪 (德国布鲁克公司, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标); JEOL-ECS 核磁共振波谱仪 (400 MHz, 日本电子, 四甲基硅烷 (TMS) 为内标); ACQUITY-UPLC-TQD 超高液相色谱-三重四级杆串联质谱仪 (美国沃特世公司); 311 型二氧化碳细胞培养箱 (美国赛默飞世尔公司); Varioskan LUX 多功能酶标仪 (美国赛默飞世尔公司); TS100 倒置显微镜 (日本尼康公司); R-300 旋转蒸发仪 (瑞士步琦公司)。

1.3 试剂

柱层析硅胶及薄层层析硅胶板 (青岛海洋化工有限公司); D-101 型吸附大孔树脂 (天津市海光化工有限公司); 葡聚糖凝胶 Sephadex LH-20 (瑞士 Pharmacia Biotech 公司); 尺寸排阻凝胶 Toyopearl HW-40 (日本东曹株式会社); 其余试剂均为分析纯; 细胞增殖和细胞毒性检测 CCK-8 试剂盒 (批号: GK1000115, 美国 GpBio 公司); DMEM 高糖培养基 (批号: 8121448, 美国 Gibco 公司); 胎牛血清 (批号: 2396297P, 美国 Gibco 公司); 一氧化氮检测试剂盒 (批号: 20211202, 南京建成生物工程研究所有限公司); 地塞米松 (dexamethasone, Dex) (批号: 21A063-A7, 上海甄准生物科技有限公司); LPS (批号:

820F036,北京 Solarbio 科技有限公司)、青霉素-链霉素混合液(批号:20210119,北京索莱宝科技有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 提取与分离

将杏叶防风全草风干,取干燥的杏叶防风全草,切碎得粗段 12 kg,使用 70% 乙醇水通过加热回流,分别提取 3 次,每次提取时间为 2 h,合并 3 次提取液后减压回收乙醇并在蒸发锅上挥发剩余溶剂,干燥至无醇味,得杏叶防风 70% 乙醇总提物浸膏(1.3 kg),取 1.5 倍量 D-101 大孔吸附树脂与浸膏进行拌样,使用水、80% 乙醇为流动相进行洗脱,浸膏经 D-101 大孔吸附树脂得到水洗脱段及 80% 乙醇洗脱段,分别减压浓缩至浸膏,得水段(972 g)及 80% 乙醇段(530 g)。D-101 大孔吸附树脂洗脱下的 80% 乙醇段,使用 1.5 倍量的硅胶(100~200 目)拌样装柱后经正相硅胶柱色谱(200~300 目),以二氯甲烷-甲醇(7:3→6:4)进行梯度洗脱,洗脱液浓缩得干浸膏 290 g,然后采用正相硅胶柱层析色谱进行分离,以石油醚-乙酸乙酯(10:0→0:1)、乙酸乙酯-甲醇(10:0→7:3)为流动相进行梯度洗脱,通过 TLC 薄层色谱点板检视合并相同馏分,最后得到 10 份主要组分段(Fr. 1~Fr. 10)。

Fr. 3 先利用正相硅胶柱,以流动相体系石油醚:乙酸乙酯(9:1→8.7:1.3)进行梯度洗脱,通过 TLC 薄层色谱点板检视合并相同馏分,得到组分 Fr. 3.1~Fr. 3.2。Fr. 3.1 和 Fr. 3.2 析出晶体,室温下,经甲醇过滤得化合物 **1**(90.0 mg)、**2**(7.3 mg)。

Fr. 4 先使用正相硅胶柱以流动相体系二氯甲烷-甲醇(70:1→20:1)进行梯度洗脱,然后再经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1)及 Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇),最后正相硅胶柱色谱,以石油醚-二氯甲烷(1:1)为流动相分离纯化得到化合物 **3**(15.7 mg)。

Fr. 5 分别采用过 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(二氯甲烷-甲醇 1:1)和 Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)分离纯化,分别得到化合物 **15**(28.9 mg)、**4**(13.8 mg)。

Fr. 6 使用 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇),得到 5 个组分 Fr. 6.1~Fr. 6.5。组分 Fr. 6.2 分别过 Toyopearl HW-40C 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱

(50% 丙酮-水)、反相十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)柱色谱(20%→50% 甲醇-水),最后分离纯化得到化合物 **9**(35.0 mg)。

Fr. 8 先用正相硅胶柱,以流动相体系二氯甲烷-甲醇(20:1→3:1)进行梯度洗脱,通过 TLC 薄层色谱点板检视合并相同馏分得到 6 个组分 Fr. 8.1~Fr. 8.6。组分 Fr. 8.3 反复经 Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(50% 甲醇水)及反相十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)(20%→40% 甲醇-水)洗脱,分离纯化得到化合物 **20**(25.7 mg)、**21**(15.0 mg)、**22**(26.8 mg)和 **23**(12.6 mg)。组分 Fr. 8.4 反复经 Toyopearl HW-40C 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇)、Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、反相十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)(20%→40% 甲醇-水)及 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(50% 丙酮-水)洗脱,分离纯化得化合物 **5**(3.0 mg)、**11**(13.2 mg)、**24**(72.9 mg)和 **25**(12.0 mg)。组分 Fr. 8.6 分别反复经 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇)、反相十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)(20%→60% 甲醇-水)、Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)及 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(50% 丙酮-水)洗脱,最后分离纯化分别得到化合物 **10**(6.0 mg)、**16**(10.0 mg)、**18**(23.0 mg)和 **19**(13.0 mg)。

Fr. 9 利用 Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(甲醇),合并相同馏分得到了 2 个组分 Fr. 9.1~Fr. 9.2。组分 Fr. 9.2 通过分别反复地过 Toyopearl HW-40C 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、Toyopearl HW-40F 尺寸排阻凝胶柱色谱(甲醇)、反相十八烷基硅烷键合硅胶(ODS)(20%→50% 甲醇-水)、Sephadex LH-20 葡聚糖凝胶柱色谱(50% 丙酮-水)然后再利用正相硅胶,以流动相体系二氯甲烷-甲醇(8:2)等度洗脱,最后分离纯化分别得到化合物 **6**(9.7 mg)、**7**(12.0 mg)、**8**(6.8 mg)、**12**(37.0 mg)、**13**(175.0 mg)、**14**(120.7 mg)和 **17**(6.0 mg)。

1.4.2 体外抗炎活性测定

取对数生长期细胞,胰酶消化计数,调整细胞密度为 3×10^5 个/mL 接种于 96 孔板,培养 24 h 后,实验分为空白对照组(control, Con)、模型组(model, Mod)、地塞米松阳性对照组(Dex)和药物组。Con 组和 Mod 组加入完全培养基,阳性对照组加入 Dex

浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$ 的培养基, 药物组加入不同浓度的药物培养基, 预处理 3 h 后, 除 Con 组外, 每组加入 LPS, 使 LPS 在 100 μL 体系终浓度为 0.25 $\mu\text{g/mL}$, 培养 24 h, 吸弃上清, 用 PBS 润洗 1 次, 每孔加入含 5% CCK-8 的培养基孵育 2 h, 用酶标仪在 450 nm 波长下检测吸光度值。按公式(1)计算细胞存活率(R)。细胞存活率低于 90% 的化合物降低浓度再次考察给药浓度, 最终选择细胞存活率为 90% 以上的药物浓度进行抗炎活性筛选。

$$R = (A_1/A_2) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_1 : 空白对照组吸光度; A_2 : 不同浓度给药组吸光度。

利用 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW 264.7 细胞模型对化合物进行抗炎活性筛选^[11]。即取对数生长期细胞, 胰酶消化计数, 按文献方法进行铺板、给药、造模处理后, 收集上清液, 按一氧化氮(NO)检测试剂盒说明书方法在 550 nm 下检测吸光度值, 根据公式(2)计算各化合物对 LPS 诱导小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW 264.7 细胞产生 NO 的抑制率(I)。

$$I = (A_2 - A_1) / (A_2 - A_0) \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 : 空白对照组吸光度; A_1 : 不同浓度给药组吸光度; A_2 : LPS 组的吸光度。

1.4.3 数据处理

实验采用 Statistical Product and Service Solutions 22.0 (SPSS 22.0) 与生物数据可视化分析 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据的分析处理, 采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行组间差异比较, 使用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结构鉴定

化合物 1 浅黄色针状结晶(乙酸乙酯); ESI-MS: m/z 332.8 $[M + H]^+$, 分子式 $C_{17}H_{16}O_7$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.57(1H, d, $J = 3.1$ Hz, H-8), 7.46(1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-5), 7.31(1H, dd, $J = 9.2, 3.1$ Hz, H-6), 4.12(3H, s, 7-OCH₃), 3.93(3H, s, 2-OCH₃), 3.92(3H, s, 3-OCH₃), 3.88(3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ : 181.6(C-9), 156.3(C-7), 154.4(C-3), 151.1(C-4b), 150.9(C-1), 146.2(C-4a), 135.4(C-2), 132.5(C-4), 125.6(C-6), 120.5(C-8a), 119.6(C-5), 105.1(C-8), 105.0(C-8b), 62.3(2-OCH₃), 61.9(3-OCH₃), 61.4(4-OCH₃), 56.1(7-OCH₃)。将该化合物的 1H

NMR 与 ^{13}C NMR 数据与文献^[12]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 1 鉴定为 1-hydroxy-2,3,4,7-tetramethoxyxanthone。

化合物 2 浅黄色针状结晶(乙酸乙酯); ESI-MS: m/z 332.5 $[M + H]^+$, 分子式 $C_{17}H_{16}O_7$; 1H NMR(400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.79(1H, dd, $J = 7.9, 1.6$ Hz, H-7), 7.28(1H, d, $J = 7.9$ Hz, H-8), 7.23(1H, overlapped, H-5), 4.13(3H, s, 3-OCH₃), 4.01(3H, s, 6-OCH₃), 4.00(3H, s, 2-OCH₃), 3.93(3H, s, 4-OCH₃); ^{13}C NMR(100 MHz, $CDCl_3$) δ : 181.9(C-9), 154.4(C-3), 150.8(C-1), 148.9(C-6), 146.6(C-4b), 146.0(C-4a), 135.7(C-4), 132.9(C-2), 123.9(C-8), 121.1(C-8a), 116.7(C-7), 116.1(C-5), 105.3(C-8b), 62.2(2-OCH₃), 62.0(3-OCH₃), 61.5(4-OCH₃), 56.7(6-OCH₃)。将该化合物的 1H NMR 与 ^{13}C NMR 数据与文献^[13]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 2 鉴定为 1-hydroxy-2,3,4,6-tetramethoxyxanthone。

化合物 3 黄色粉末; ESI-MS: m/z 274.8 $[M + H]^+$, 分子式 $C_{14}H_{10}O_6$; 1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.25(1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.63(1H, $J = 8.8$ Hz, H-7), 6.58(1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-4), 6.37(1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2), 3.88(3H, s, 3-OCH₃); ^{13}C NMR(100 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 184.1(C-9), 167.1(C-3), 162.0(C-1), 157.4(C-4a), 151.8(C-8), 143.4(C-4b), 137.4(C-5), 123.9(C-6), 109.6(C-7), 107.5(C-8a), 102.2(C-8b), 97.5(C-2), 93.0(C-4), 56.3(3-OCH₃)。将该化合物的 1H NMR 与 ^{13}C NMR 数据与文献^[14]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 3 鉴定为 bellidifolin。

化合物 4 黄色粉末; ESI-MS: m/z 260.6 $[M + H]^+$, 分子式 $C_{13}H_8O_6$; 1H NMR(400 MHz, $DMSO-d_6$) δ : 7.23(1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-6), 6.62(1H, d, $J = 8.8$ Hz, H-7), 6.40(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-4), 6.21(1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-2); ^{13}C NMR(100MHz, $DMSO-d_6$) δ : 183.8(C-9), 166.6(C-3), 162.3(C-1), 157.5(C-4a), 151.8(C-8), 143.3(C-4b), 137.3(C-5), 123.7(C-6), 109.5(C-7), 107.4(C-8a), 101.2(C-8b), 98.5(C-2), 94.4(C-4)。将该化合物的 1H NMR 与 ^{13}C NMR 数据与文献^[14]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 4 鉴定为 desmethylbellidifolin。

化合物 5 黄色粉末;ESI-MS m/z :437.2 [M + H]⁺, 分子式 C₂₀H₂₀O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :7.27(1H, d, J = 8.9 Hz, H-7), 7.12(1H, d, J = 8.9 Hz, H-6), 6.58(1H, d, J = 2.3 Hz, H-4), 6.37(1H, d, J = 2.3 Hz, H-2), 5.05(2H, m, H-6'), 4.80(1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'), 4.63(1H, t, J = 5.8 Hz, H-3'), 3.89(3H, s, 3-OCH₃), 3.74~3.20(3H, m, H-2', 4', 5'); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ :181.1 (C-9), 166.3 (C-3), 162.8 (C-1), 156.5 (C-4a), 149.5 (C-8), 145.1 (C-4b), 141.0 (C-5), 121.1 (C-6), 112.3 (C-7), 111.9 (C-8a), 103.6 (C-8b), 103.1 (C-1'), 97.2 (C-2), 92.2 (C-4), 77.5 (C-5'), 76.1 (C-3'), 73.5 (C-2'), 69.7 (C-4'), 60.8 (C-6'), 56.1 (3-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[15]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 5 鉴定为当药醇苷。

化合物 6 黄色粉末;ESI-MS: m/z 462.5 [M + H]⁺, 分子式 C₂₂H₂₂O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) (旋阻异构引起的信号分裂) δ :7.48/7.45(1H, d, J = 8.6 Hz, H-6'), 7.45(1H, s, H-2'), 6.91(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.79/6.78(1H, s, H-8), 6.77/6.75(1H, s, H-3), 4.58(1H, t, J = 9.1 Hz, H-1'), 4.17(1H, t, J = 9.1 Hz, H-2''), 3.90/3.87(3H, s, 7-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) (旋阻异构引起的信号分裂) δ :182.3/181.9 (C-4), 165.0/163.8 (C-7), 164.1/164.0 (C-2), 160.4/159.7 (C-5), 156.9/156.8 (C-9), 150.0 (C-4'), 145.9 (C-3'), 121.4 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.1 (C-5'), 113.5 (C-2'), 109.8/109.7 (C-6), 104.7/104.2 (C-10), 103.2 (C-3), 91.0/90.2 (C-8), 82.0/81.8 (C-5''), 79.1/79.1 (C-3''), 72.9/72.7 (C-2''), 71.0/70.9 (C-1''), 70.3/69.7 (C-4''), 61.8 (C-6''), 56.6/56.3 (7-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[16,17]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 6 鉴定为日本当药黄素。

化合物 7 黄色粉末;ESI-MS: m/z 462.5 [M + H]⁺, 分子式 C₂₂H₂₂O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :7.56(1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz, H-6'), 7.49(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.87(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'), 6.70(1H, s, H-3), 6.52(1H, s, H-6), 4.71(1H, d, J = 9.9 Hz, H-1''), 3.88(3H, s, 7-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ :182.3 (C-4), 164.6 (C-2), 163.4 (C-7), 161.4 (C-5), 155.2 (C-9), 149.9

(C-4'), 145.9 (C-3'), 121.9 (C-1'), 119.6 (C-6'), 115.7 (C-5'), 114.2 (C-2'), 105.7 (C-8), 104.5 (C-10), 102.5 (C-3), 95.0 (C-6), 82.1 (C-5''), 78.8 (C-3''), 73.2 (C-1''), 70.8 (C-2''), 70.7 (C-4''), 61.6 (C-6''), 56.6 (7-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[18]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 7 鉴定为异日本獐牙菜素。

化合物 8 黄色粉末;ESI-MS: m/z 595.4 [M + H]⁺, 分子式 C₂₇H₃₀O₁₅; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :7.44(1H, dd, J = 7.2, 2.0 Hz, H-6'), 7.43(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'), 6.94(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.74(1H, s, H-3), 6.73(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.45(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 5.07(1H, d, J = 7.2 Hz, H-1''), 4.54(1H, d, J = 1.6 Hz, H-1'''), 1.06(3H, d, J = 6.0 Hz, H-6'''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ :181.9 (C-4), 164.6 (C-2), 162.9 (C-7), 161.3 (C-5), 156.9 (C-9), 150.0 (C-4'), 145.8 (C-3'), 121.4 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 113.6 (C-2'), 105.4 (C-10), 103.2 (C-3), 100.5 (C-1'''), 99.9 (C-1''), 99.5 (C-6), 94.8 (C-8), 76.3 (C-3''), 75.6 (C-5''), 73.1 (C-2''), 72.1 (C-4'''), 70.8 (C-3'''), 70.3 (C-2'''), 69.6 (C-4''), 68.3 (C-5'''), 66.1 (C-6''), 17.8 (C-6''')。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[19]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 8 鉴定为木犀草素-7-O- β -D-芸香糖苷。

化合物 9 黄色粉末;ESI-MS: m/z 773.4 [M + H]⁺, 分子式 C₃₆H₃₆O₁₉; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ :7.43(1H, dd, J = 8.4, 2.4 Hz, H-6'), 7.42(1H, d, J = 15.6 Hz, H-8'''), 7.41(1H, d, J = 2.4 Hz, H-2'), 6.98(1H, d, J = 2.0 Hz, H-2'''), 6.95(1H, d, J = 8.4 Hz, H-5'), 6.90(1H, dd, J = 8.0, 2.0 Hz, H-6'''), 6.75(1H, d, J = 2.0 Hz, H-6), 6.73(1H, d, J = 8.0 Hz, H-5'''), 6.64(1H, s, H-3), 6.53(1H, d, J = 2.0 Hz, H-8), 6.21(1H, d, J = 15.6 Hz, H-7'''), 5.02(1H, d, J = 7.2 Hz, H-1''), 4.30(1H, d, J = 7.6 Hz, H-1'''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ :182.0 (C-4), 166.7 (C-9'''), 164.5 (C-2), 162.9 (C-7), 161.3 (C-5), 156.9 (C-9), 150.0 (C-4'), 148.4 (C-4'''), 145.8 (C-3'), 145.5 (C-7'''), 145.5 (C-3'''), 125.5 (C-1'''), 121.5 (C-6'''), 121.3 (C-1'), 119.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.8 (C-5'''), 115.1 (C-2'''), 113.7 (C-8'''), 113.6 (C-

2'), 105.4 (C-10), 104.0 (C-1'''), 103.2 (C-3), 100.1 (C-1''), 99.7 (C-6), 95.0 (C-8), 76.6 (C-3'''), 76.5 (C-3''), 75.5 (C-5''), 74.0 (C-5'''), 73.5 (C-2'''), 73.3 (C-2''), 69.9 (C-4''), 69.9 (C-4'''), 69.7 (C-6''), 63.4 (C-6'''). 将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[20]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 **9** 鉴定为 luteolin-7-*O*-β-D-glucopyranosyl-(1 → 6)-[6'''-*O*-caffeoyl]-β-D-glucopyranoside。

化合物 10 黄色粉末; ESI-MS: m/z 449.2 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.52 (1H, dd, $J = 8.4, 2.4$ Hz, H-6'), 7.49 (1H, d, $J = 2.4$ Hz, H-2'), 7.23 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.81 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 6.19 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 4.88 (1H, d, $J = 7.2$ Hz, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 181.8 (C-4), 164.4 (C-7), 163.2 (C-2), 161.4 (C-5), 157.4 (C-9), 148.6 (C-4'), 146.9 (C-3'), 124.7 (C-1'), 118.5 (C-6'), 116.0 (C-5'), 113.6 (C-2'), 104.0 (C-3), 103.8 (C-10), 101.2 (C-1''), 98.9 (C-6), 94.1 (C-8), 77.3 (C-5''), 75.9 (C-3''), 73.2 (C-2''), 69.8 (C-4''), 60.7 (C-6''). 将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[21]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 **10** 鉴定为木犀草素-4'-*O*-β-D-葡萄糖苷。

化合物 11 黄色粉末; ESI-MS: m/z 432.8 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.42 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-6'), 7.40 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.3$ Hz, H-5'), 6.68 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, s, H-8), 4.62 (1H, d, $J = 9.6$ Hz, H-1''); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 181.9 (C-4), 163.8 (C-2), 163.0 (C-7), 159.7 (C-5), 156.3 (C-9), 149.9 (C-4'), 145.8 (C-3'), 121.4 (C-1'), 119.0 (C-6'), 116.0 (C-5'), 113.4 (C-2'), 109.3 (C-6), 103.4 (C-10), 102.8 (C-3), 94.1 (C-8), 75.1 (C-3''), 74.0 (C-5''), 73.5 (C-1''), 71.6 (C-4''), 68.5 (C-2''), 17.1 (C-6''). 将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[22]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 **11** 鉴定为木犀草素-6-*C*-β-*L*-岩藻糖苷。

化合物 12 黄色粉末; ESI-MS: m/z 449.0 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.54 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 7.48

(1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.86 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.65 (1H, s, H-3), 6.27 (1H, s, H-6), 4.68 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-1''), 3.85 ~ 3.78 (2H, m, H-5'', 6''a), 3.55 (1H, dd, $J = 11.8, 6.4$ Hz, H-6''b), 3.37 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''), 3.25 (2H, t, $J = 8.4$ Hz, H-3'', 2''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 182.1 (C-4), 164.1 (C-2), 162.6 (C-7), 160.4 (C-5), 156.0 (C-9), 149.7 (C-4'), 145.9 (C-3'), 122.0 (C-1'), 119.4 (C-6'), 115.7 (C-5'), 114.1 (C-2'), 104.6 (C-10), 104.0 (C-8), 102.4 (C-3), 98.1 (C-6), 82.1 (C-5''), 78.8 (C-1''), 73.4 (C-2''), 70.8 (C-3''), 70.7 (C-4''), 61.7 (C-6''). 将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[23]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 **12** 鉴定为荜草素。

化合物 13 黄色粉末; ESI-MS: m/z 449.1 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.42 (1H, dd, $J = 8.3, 2.4$ Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 6.89 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.67 (1H, s, H-3), 6.48 (1H, s, H-8), 4.58 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-1''), 4.04 (1H, t, $J = 9.2$ Hz, H-4''), 3.69 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-6''a), 3.22 ~ 3.09 (4H, m, H-2'', 3'', 5'', 6''b); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 181.9 (C-4), 163.7 (C-2), 163.3 (C-7), 160.8 (C-5), 156.2 (C-9), 149.8 (C-4'), 145.8 (C-3'), 121.5 (C-1'), 119.0 (C-6'), 116.1 (C-5'), 113.3 (C-2'), 108.9 (C-6), 103.4 (C-10), 102.8 (C-3), 93.5 (C-8), 81.7 (C-5''), 79.0 (C-3''), 73.1 (C-1''), 70.7 (C-2''), 70.2 (C-4''), 61.5 (C-6''). 将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[23]中报道的数据进行对比, 两者基本一致, 故化合物 **13** 鉴定为异荜草素。

化合物 14 黄色粉末; ESI-MS: m/z 464.8 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₂; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.67 (1H, dd, $J = 8.5, 2.2$ Hz, H-6'), 7.53 (1H, d, $J = 2.3$ Hz, H-2'), 6.81 (1H, d, $J = 8.4$ Hz, H-5'), 6.40 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-6), 6.20 (1H, d, $J = 2.0$ Hz, H-8), 5.38 (1H, d, $J = 7.6$ Hz, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.5 (C-4), 164.2 (C-7), 161.3 (C-5), 156.3 (C-2), 156.2 (C-9), 148.5 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.5 (C-3), 122.0 (C-6'), 121.1 (C-1'), 116.0 (C-5'), 115.2 (C-2'), 103.9 (C-10), 101.8 (C-1''), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8), 75.9 (C-5''), 73.2 (C-3''), 71.2 (C-2''), 67.9 (C-4''), 60.2 (C-

6")。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[24]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **14** 鉴定为槲皮素-3-*O*-β-*D*-半乳糖苷。

化合物 15 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 270.9 [M + H]⁺, 分子式 C₁₅H₁₀O₅; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.92 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-2', 6'), 6.92 (2H, d, *J* = 8.8 Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.47 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 181.8 (C-4), 164.2 (C-2), 163.7 (C-7), 161.5 (C-9), 161.2 (C-5), 157.3 (C-4'), 128.5 (C-2', 6'), 121.2 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 103.7 (C-10), 102.8 (C-3), 98.9 (C-6), 94.0 (C-8)。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[25]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **15** 鉴定为芹菜素。

化合物 16 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 626.7 [M + H]⁺, 分子式 C₃₀H₂₆O₁₅; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.65 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.2 Hz, H-6'), 7.54 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.31 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-7'''), 6.97 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'''), 6.84 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.81 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'''), 6.76 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'''), 6.38 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.16 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.05 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-8'''), 5.39 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.5 (C-4), 166.3 (C-9'''), 164.3 (C-7), 161.3 (C-5), 156.4 (C-9), 156.2 (C-2), 148.6 (C-4'), 148.5 (C-4'''), 145.6 (C-3'''), 145.3 (C-3'), 145.0 (C-7'''), 133.5 (C-3), 125.5 (C-1'''), 122.0 (C-1'), 121.4 (C-8'''), 121.2 (C-6'), 116.0 (C-5'), 115.8 (C-6'''), 115.3 (C-2'), 114.9 (C-5'''), 113.5 (C-2'''), 103.9 (C-10), 101.7 (C-1''), 98.9 (C-6), 93.6 (C-8), 73.1 (C-3''), 73.0 (C-5''), 71.1 (C-2''), 68.4 (C-4''), 63.2 (C-6'')。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[26]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **16** 鉴定为 quercetin-3-*O*-β-*D*-(6''-caffeoyl)galactoside)。

化合物 17 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 492.7 [M + H]⁺, 分子式 C₂₃H₂₄O₁₂; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.36 (2H, s, H-2', 6'), 7.07 (1H, s, H-3), 6.93 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.46 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6), 5.05 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.88 (6H, s, 3', 5'-OCH₃), 3.46 ~ 3.27 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'',

6''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 182.1 (C-4), 164.2 (C-2), 163.0 (C-7), 161.1 (C-5), 156.9 (C-9), 148.2 (C-3', 5'), 140.1 (C-4'), 120.2 (C-1'), 105.4 (C-10), 104.5 (C-2', 6'), 103.8 (C-3), 100.2 (C-1''), 99.5 (C-6), 95.3 (C-8), 77.4 (C-5''), 76.5 (C-3''), 73.2 (C-2''), 69.7 (C-4''), 60.7 (C-6''), 56.4 (3', 5'-OCH₃)。将该化合物的数据与文献^[27]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **17** 鉴定为小麦黄素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 18 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 416.7 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₉; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ: 8.16 (1H, s, H-2), 8.04 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-5), 7.36 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.98 (1H, d, *J* = 8.9 Hz, H-6), 6.84 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', 5'), 5.10 (1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD) δ: 178.4 (C-4), 163.3 (C-7), 158.8 (C-4'), 158.2 (C-9), 154.6 (C-2), 131.5 (C-3', 5'), 128.2 (C-5), 125.6 (C-3), 124.3 (C-1'), 118.5 (C-10), 116.8 (C-6), 116.4 (C-2', 6'), 113.2 (C-8), 82.9 (C-5''), 80.1 (C-3''), 75.8 (C-1''), 73.1 (C-2''), 71.8 (C-4''), 62.9 (C-6'')。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[28]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **18** 鉴定为葛根素。

化合物 19 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 432.7 [M + H]⁺, 分子式 C₂₁H₂₀O₁₀; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.02 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.89 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-3', 5'), 6.77 (1H, s, H-3), 6.26 (1H, s, H-6), 4.70 (1H, d, *J* = 9.9 Hz, H-1''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 182.1 (C-4), 163.9 (C-2), 163.0 (C-7), 161.2 (C-5), 160.4 (C-4'), 156.0 (C-9), 129.0 (C-2', 6'), 121.6 (C-1'), 115.9 (C-3', 5'), 104.7 (C-8), 103.9 (C-10), 102.4 (C-3), 98.3 (C-6), 81.8 (C-5''), 78.7 (C-3''), 73.4 (C-1''), 70.9 (C-2''), 70.6 (C-4''), 61.3 (C-6'')。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[29]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **19** 鉴定为牡荆素。

化合物 20 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 493.3 [M + H]⁺, 分子式 C₂₃H₂₄O₁₂; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.96 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 7.55 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.75 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.38 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.59 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''),

3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 3.85 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.6 (C-4), 165.2 (C-7), 160.9 (C-5), 156.6 (C-9), 156.3 (C-2), 149.6 (C-3'), 147.0 (C-4'), 133.2 (C-3), 122.2 (C-6'), 121.0 (C-1'), 115.2 (C-5'), 113.5 (C-2'), 105.0 (C-10), 100.8 (C-1''), 98.0 (C-6), 92.3 (C-8), 77.5 (C-5''), 76.4 (C-3''), 74.4 (C-2''), 69.8 (C-4''), 60.6 (C-6''), 56.2 (7-OCH₃), 56.2 (4'-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR与¹³C NMR数据与文献^[30,31]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物**20**鉴定为商陆素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 21 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 493.4 [M + H]⁺,分子式 C₂₃H₂₄O₁₂; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.61 (1H, brs, 5-OH), 9.80 (1H, brs, 3'-OH), 8.04 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 7.56 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.91 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.75 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-8), 6.38 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 5.53 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-1''), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 3.86 (3H, s, 4'-OCH₃); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.6 (C-4), 165.2 (C-7), 160.9 (C-5), 156.6 (C-9), 156.3 (C-2), 149.6 (C-4'), 147.1 (C-3'), 133.4 (C-3), 122.0 (C-1'), 121.0 (C-6'), 115.2 (C-2'), 113.6 (C-5'), 105.0 (C-10), 101.6 (C-1''), 98.0 (C-6), 92.3 (C-8), 75.9 (C-5''), 73.1 (C-3''), 72.3 (C-2''), 68.0 (C-4''), 60.3 (C-6''), 56.2 (7-OCH₃), 56.0 (4'-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR与¹³C NMR数据与文献^[32]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物**21**鉴定为商陆素-3-*O*-β-*D*-半乳糖苷。

化合物 22 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 478.6 [M + H]⁺,分子式 C₂₂H₂₂O₁₂; ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.70 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.3 Hz, H-6'), 7.58 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 6.83 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 6.69 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.37 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-6), 5.41 (1H, d, *J* = 7.7 Hz, H-1''), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 3.66 ~ 3.32 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', H-6''); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.7 (C-4), 165.2 (C-7), 161.0 (C-5), 156.6 (C-2), 156.3 (C-9), 148.7 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.8 (C-3), 122.1 (C-6'), 121.1 (C-1'), 116.2 (C-2'), 115.2 (C-5'), 105.0 (C-10), 101.8 (C-1''), 97.9 (C-6), 92.2 (C-8), 75.9 (C-5''), 73.2 (C-3''), 71.3 (C-2''), 68.0 (C-4''), 60.2 (C-6''), 56.1 (7-OCH₃)。将该化

合物的¹H NMR与¹³C NMR数据与文献^[33]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物**22**鉴定为鼠李素-3-*O*-β-*D*-半乳糖苷。

化合物 23 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 478.7 [M + H]⁺,分子式 C₂₂H₂₂O₁₂; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.61 (2H, d, *J* = 8.4 Hz, H-2', 6'), 6.85 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.70 (1H, d, *J* = 2.4 Hz, H-8), 6.37 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.48 (1H, d, *J* = 6.8 Hz, H-1''), 3.86 (3H, s, 7-OCH₃), 3.59 ~ 3.09 (6H, m, H-2'', 3'', 4'', 5'', H-6''); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.6 (C-4), 165.1 (C-7), 161.0 (C-5), 156.6 (C-2), 156.3 (C-9), 148.8 (C-4'), 144.9 (C-3'), 133.6 (C-3), 121.7 (C-6'), 121.0 (C-1'), 116.3 (C-2'), 115.2 (C-5'), 105.0 (C-10), 100.8 (C-1''), 97.9 (C-6), 92.2 (C-8), 77.6 (C-5''), 76.5 (C-3''), 74.1 (C-2''), 70.0 (C-4''), 61.0 (C-6''), 56.1 (7-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR与¹³C NMR数据与文献^[33]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物**23**鉴定为鼠李素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 24 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 478.8 [M + H]⁺,分子式 C₂₂H₂₂O₁₂; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.93 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-2'), 7.51 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 6.92 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 6.43 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.20 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 5.55 (1H, d, *J* = 7.6 Hz, H-1''), 3.85 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 177.3 (C-4), 164.4 (C-7), 161.2 (C-5), 156.4 (C-9), 156.1 (C-2), 149.4 (C-4'), 146.9 (C-3'), 133.0 (C-3), 122.0 (C-6'), 121.1 (C-1'), 115.2 (C-5'), 113.6 (C-2'), 103.9 (C-10), 100.9 (C-1''), 98.7 (C-6), 93.6 (C-8), 77.3 (C-5''), 76.4 (C-3''), 74.3 (C-2''), 69.9 (C-4''), 60.6 (C-6''), 55.7 (3'-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR与¹³C NMR数据与文献^[34]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物**24**鉴定为异鼠李素-3-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 25 黄色粉末;ESI-MS:*m/z* 462.8 [M + H]⁺,分子式 C₂₂H₂₂O₁₁; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.58 (1H, dd, *J* = 8.0, 2.0 Hz, H-6'), 7.56 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-2'), 6.95 (1H, s, H-3), 6.91 (1H, d, *J* = 8.3 Hz, H-5'), 6.86 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.44 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6), 5.06 (1H, d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 3.88 (3H, s, 3'-OCH₃); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 182.0 (C-4), 164.3 (C-2),

162.9 (C-7), 161.1 (C-5), 156.9 (C-9), 152.1 (C-4'), 148.3 (C-3'), 120.7 (C-1'), 120.5 (C-6'), 116.0 (C-5'), 110.2 (C-2'), 105.3 (C-10), 103.1 (C-3), 100.0 (C-1''), 99.5 (C-6), 95.0 (C-8), 77.3 (C-3''), 76.5 (C-5''), 73.1 (C-2''), 69.6 (C-4''), 60.6 (C-

6''), 55.9 (3'-OCH₃)。将该化合物的¹H NMR 与¹³C NMR 数据与文献^[35]中报道的数据进行对比,两者基本一致,故化合物 **25** 鉴定为柯伊利素-7-*O*-β-*D*-葡萄糖苷。

化合物 **1** ~ **25** 结构见图 1。

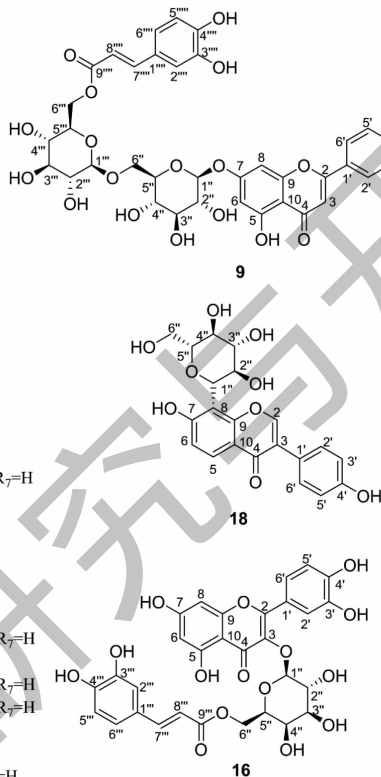
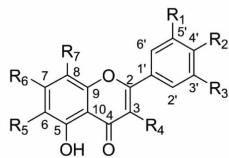
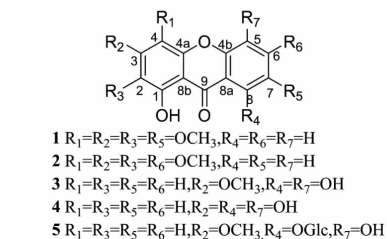


图 1 化合物 **1** ~ **25** 的结构

Fig. 1 Structures of compounds **1-25**

2.2 活性测试结果

化合物对 RAW 264.7 细胞存活率的影响实验结果(见图 2)显示,100 μmol/L 的化合物 **3**、**14**, 50 μmol/L 的化合物 **1**、**2**、**4** ~ **9**、**11** ~ **13**、**18** ~ **22**, 25

μmol/L 的化合物 **10**、**15**、**17**、**23**, 10 μmol/L 的化合物 **16**、**25** 的细胞存活率与空白对照组比较均无显著差异($P > 0.05$),且细胞存活率均高于 90%。因此,后续选择以上药物浓度进行抗炎活性考察。

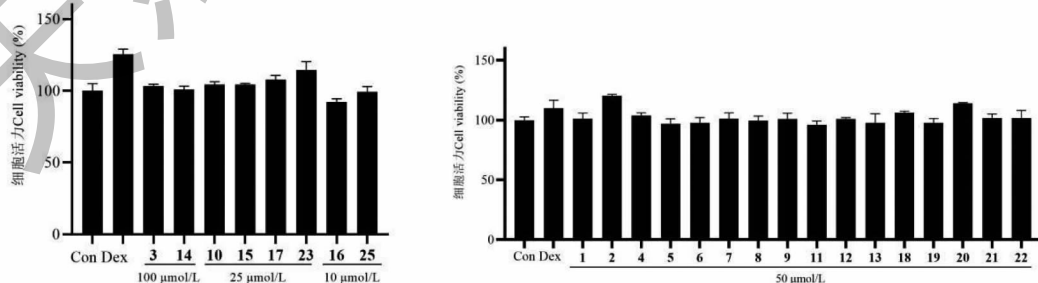


图 2 化合物对 RAW 264.7 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effects of compounds on the survival rate of RAW 264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

采用 LPS 处理 24 h 后,如图 3 所示,与空白对照组比较,模型组细胞的 NO 分泌量显著增加($P < 0.01$)。与模型组比较化合物 **1**~**3**、**6**~**10**、**12**~**15**、**17**~**20**、**23**、**25** 均能不同程度地降低细胞的 NO 分泌量($P < 0.05$)。在浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$ 时,化合物 **25** 对细胞的 NO 抑制率分别为 63.75%,在浓度为 25 $\mu\text{mol/L}$ 时,化合物 **10**、**15**、**17**、**23** 对细胞的 NO 抑制

率分别为 73.25%、86.67%、26.58%、60.44%,在浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ 时,化合物 **1**、**2**、**6**~**9**、**12**、**13**、**18**~**20** 对细胞的 NO 抑制率分别为 78.86%、77.15%、72.35%、69.18%、73.93%、78.69%、58.97%、66.40%、62.93%、58.18%、73.57%、62.14%,在浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时,化合物 **3**、**14** 对细胞的 NO 抑制率分别为 74.08%、80.72%。

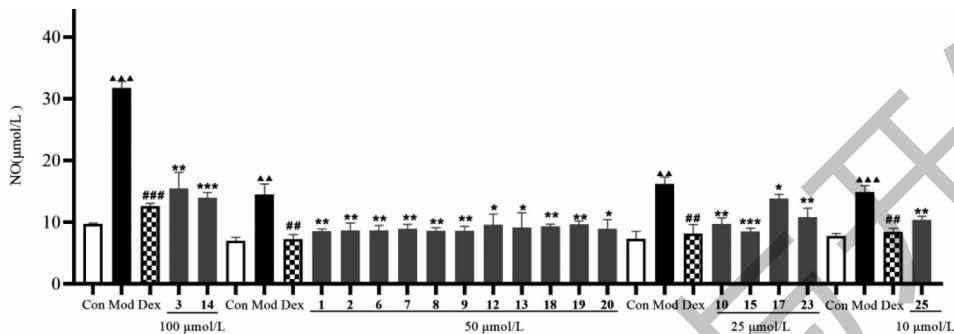


图 3 化合物对 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞产生 NO 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of compounds on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

注:与 Con 比较,### $P < 0.001$;与 Mod 比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。Note:Compared with Con,### $P < 0.001$;Compared with Mod,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$ 。

3 结论

贵州少数民族药在民间有着悠久的用药历史,常用于治疗慢性疾病,许多常见慢性疾病是由于人体组织长期存在炎症而导致,炎症是一种机体组织受到外界物理、化学及生物损伤的一种最普遍的防御形式,在炎症过程中巨噬细胞促进促炎介质的产生,如一氧化氮、肿瘤坏死因子、前列腺素、和活性氧等,许多慢性疾病如哮喘、癌症、关节炎和其他相关疾病与炎症过程中促炎介质的过度产生有关^[36]。治疗人类严重疾病的药物存在副作用大、价格昂贵及严重耐药性等缺点,为了改善人们健康和生活质量,需要开发更便宜、安全和更有效的药物维持人体正常代谢,寻找更多活性成分非常有必要的,所以从少数民族药中挖掘活性成分已经成为药物研究者关注的热点。

本研究从民族药杏叶防风中共分离得到 25 个黄酮类化合物,并对其进行了体外抗炎活性实验。结果表明杏叶防风含有丰富的黄酮类成分,且抗炎检测结果显示,化合物 **1**~**3**、**6**~**10**、**12**~**15**、**17**~**20**、**23**、**25** 能够不同程度上抑制脂多糖诱导 RAW 264.7 巨噬细胞释放一氧化氮。结果表明,杏叶防风有望用于治疗炎症性疾病,且抗炎作用可能与其中所含的黄酮类化合物有关,但其抗炎作用机制有待进一步研究。本研究结果丰富了杏叶防风的化学

成分,也能为该药材综合药用开发利用提供一定的科学和实验理论依据。

参考文献

- 1 Guizhou Medical Products Administration. Guizhou Provincial Traditional Chinese Medicinal Material and Ethnic Medicinal Material Standard(2003 edition)(贵州省中药材、民族药材质量标准:2003 年版)[M]. Guiyang: Guizhou Science Press, 2003:385.
- 2 Liang GY, Wang DP, Xu BX, et al. Studies on the compounds from *Pimoinella candolleana*[J]. Guizhou Sci(贵州科学), 2003, 21: Z58-Z60.
- 3 Chang X. Studies on the active constituents of *Tamarix ramosissima* Ledeb. and *Pimpinella candolleana* Wight et Arn. [D]. Kaifeng: Henan University(河南大学), 2011.
- 4 Tepe B, Akpulat HA, Sokmen M, et al. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey [J]. Food Chem, 2006, 97: 719-724.
- 5 Guelcin I, Oktay M, Kirecci E, et al. Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise(*Pimpinella anisum* L.) seed extracts[J]. Food Chem, 2003, 83: 371-382.
- 6 Al-Bayati FA. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 116: 403-406.
- 7 Pourgholami MH, Majzoob S, Javadi M, et al. The fruit essen-

- tial oil of *Pimpinella anisum* exerts anticonvulsant effects in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 1999, 66:211-215.
- 8 Carlos RT, Claudia RA, Adriano OC, et al. Antispasmodic and relaxant effects of the hydroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeus smooth muscle [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 110:23-29.
- 9 Chen GJ, Xie RM, Shen YQ, et al. Pharmacological research of *Pimpinella thellungiana* Wolff I preliminary analysis of the antihypertensive effect and mechanism[J]. *Shaanxi Med J*(陕西新医药), 1981, 11:48.
- 10 Li L, Lei Y, Wang Y, et al. Chemical constituents of *Pimpinella candolleana* and their anti-inflammatory activities[J]. *Guihaia*(广西植物), 2023, 43:1114-1123.
- 11 Yu M, Ran HL, Mei WL, et al. Study on chemical constituents and their anti-inflammatory activity from stems of *Strophanthus divaricatus*[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2022, 34:57-62.
- 12 Mou LY. Studies on the chemical constituents and bioactivities of *Swertia punicea* Hemsl. and *Anemone vitifolia* Buch. - Ham. [D]. Kunming: Yunnan Minzu University(云南民族大学), 2018.
- 13 Lei S, Guo Q, Wang MF, et al. Xanthenes from *Swertia punicea* and their cytotoxic activity[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2017, 29:1877-1881.
- 14 Wang HX. Study of chemical constituents and anti-cancer activity of Zang Yinchen extracts [D]. Xining: Qinghai University(青海大学), 2017.
- 15 Geng JL, Geng CA, Chen JJ. Chemical constituents of *Swertia cincta*[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24:42-46.
- 16 Liu Z, Qi YY, Wu HY, et al. Chemical constituents of tibetan medicine *Comastoma pedunculatum* whole herb [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2021, 44:1395-1402.
- 17 Yin J, Wu YX, Wu QN, et al. Chemical constituents from the leaves of *Lophatherum gracil*[J]. *Northwest Pharm J*(西北药学杂志), 2010, 25:413-414.
- 18 Marina DG, Maria F, Antonio F, et al. Antialgal compounds from *Zantedeschia aethiopica*[J]. *Phytochemistry*, 1998, 49:1299-1304.
- 19 Wang JQ, Liu Y, Yang YF, et al. Anti-oxidant chemical constituents from *Patrinia villosa* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2019, 50:5206-5211.
- 20 Aga EB, Li HJ, Chen J, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Codonopsis nervosa* [J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10:366-369.
- 21 Wen T, Huang J, Huang XJ, et al. Phenols from *Vitex negundo*[J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2017, 39:1431-1434.
- 22 Zhou YJ, Li HW, Tan F, et al. Studies on the chemical constituents of *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2009, 32:1686-1688.
- 23 Wang YF, Zhang ZX, He RJ, et al. Study on the chemical constituents of the aerial parts of *Polygonatum sibiricum* and its pancreatic lipase inhibitory activity[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2020, 32:1811-1817.
- 24 Wu Y, Yang XF, Cao XH, et al. Chemical constituents from *Zanthoxylum bungeanum* Dahongpao [J]. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 2018, 40:379-382.
- 25 Liang XS, Luo RL, Li FQ, et al. Isolation and identification of chemical compounds from *Caesalpinia sinensis* [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2021, 38:2346-2350.
- 26 Nobuharu S, Isao K, Nobusuke K. Quercetin 3-(6"-caffeoyl-galactoside) from *Hydrocotyle sibthorpioides*[J]. *Phytochemistry*, 1982, 21:2156-2158.
- 27 Zhang WK, Xu JK, Zhang L, et al. Flavonoids from the bran of *Avena sativa*[J]. *Chin J Nat Med*, 2012, 10:110-114.
- 28 Liu Y, Yang BY, Xu ZP, et al. Study on flavonoids from *Nicandra physaloides* and their immune activities [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2016, 47:3965-3969.
- 29 Zhang LJ, Quan YX, Li LH, et al. Chemical constituents and their anti-inflammatory activity from twigs of *Ormosia hosiei* Hemsl. & E. H. Wilson [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2021, 33:585-591.
- 30 Lei J, Chen P, Xu XD, et al. Chemical constituents of the stem of *Acanthopanax sessiliflorus* (Rupr. Et Maxim.) Seem [J]. *Chin Pharm J*(中国药理学杂志), 2014, 49:1595-1598.
- 31 Nassar MI, Gaara AH, El-Ghorab AH, et al. Chemical constituents of clove (*Syzygium aromaticum*, Fam. Myrtaceae) and their antioxidant activity [J]. *Revista Latinoamericana de Quimica*, 2007, 35:47-57.
- 32 Li YJ, Li CB, He X, et al. Chemical constituents in herb of *Polygonum orientale* II [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2011, 36:458-461.
- 33 Miliauskas G, Beek TA, Venskutonis PR, et al. Antioxidant activity of *Potentilla fruticosa* [J]. *J Sci Food Agric*, 2004, 84:1997-2009.
- 34 Hu YL, Li H, Ji GM, et al. Chemical constituents with HDAC inhibitory effects from *Epimedium sagittatum* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2021, 33:1681-1690.
- 35 Zhang J, Pang DR, Huang Z, et al. Flavonoids from whole plants of *Lagopsis supina* [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2015, 40:3224-3228.
- 36 Kishore N, Kumar P, Shanker K, et al. Human disorders associated with inflammation and the evolving role of natural products to overcome [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 179:272-309.